

Индекс 74088

Journals
W1
VR
181

ISSN 0049-6804

Врачебное дело

Vrachebnoe Delo
UCSF LIBRARY
Received on: 06-19-91

2.91

ное дело», то
улого месяца

», на три ме-
» содержатся
кой ССР. Ин-

вания жовчно-

е). Деякі особ-
атури).

зболеваю ише-

хирургического
ердца.

(авинсон (Киев).
больных про-
кций.

зская (Киев). К
гг. в историко-

BEST AVAILABLE COPY

КИЕВ «ЗДОРОВЬЯ»

USE OF ULTRASOUND AMPLITUDE HISTOGRAPHY IN THE DIAGNOSIS OF CHRONIC PANCREATITIS

L. I. Geller, V. N. Maneshin, M. M. Pashko (Khabarovsk)

SUMMARY

Ultrasound amplitude histography was used to evaluate structural disorders of the pancreas in patients with chronic pancreatitis. The amplitude histogram peak proved to be higher in chronic pancreatitis than in healthy subjects.

The method enables to differentiate patients according to the severity of the disease characterized by the level of pancreatic enzymes secretory insufficiency.

Поступила 20.07.89

УДК 612.017.11:616-003.725:616.379-008.64

В. С. ШЛЯХОВЕНКО, М. А. ГУЗОВ, С. Э. МИЛЕНКО, Э. В. МИХАЙЛОВСКАЯ,
А. К. КАЛИНОВСКИЙ, А. А. ХОДАК, К. П. ЗАК

ЕСТЕСТВЕННЫЕ КЛЕТКИ-КИЛЛЕРЫ РАЗЛИЧНОГО ИММУНОЛОГИЧЕСКОГО ФЕНОТИПА (CD16⁺, CD56⁺ И CD57⁺) В КРОВИ БОЛЬНЫХ ИНСУЛИНОЗАВИСИМЫМ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ

Лаборатория гормональной регуляции кроветворения (зав.—проф. К. П. Зак)
Киевского НИИ эндокринологии и обмена веществ

Нами ранее [2, 1], а также работами других авторов [3, 5, 7] было показано, что у большинства больных инсулинозависимым сахарным диабетом (ИЗСД) наблюдается угнетение активности системы естественных клеток-киллеров (ЕКК), которая во многом определяет неспецифическую резистентность организма, обеспечивает «первую линию защиты» против развития злокачественных опухолей и различных инфекций, а также участвует в регуляции кроветворения и иммунитета.

Оценка состояния системы ЕКК основана на определении их цитотоксической активности по отношению к различным клеткам-мишеням и на непосредственном подсчете количества ЕКК в исследуемых образцах. Наиболее точным способом определения количества ЕКК является метод проточной цитометрии с использованием моноклональных антител (МАТ) к таким мембранным антигенам, как CD16, CD56 и CD57.

Метод проточной цитометрии для исследования состояния неспецифического иммунитета у больных ИЗСД в нашей стране почти не применялся. За рубежом этому вопросу посвящены отдельные работы, в которых использовали одно или не более двух указанных МАТ. Так, показано [7], что в крови больных ИЗСД по сравнению со здоровыми содержится более низкое количество CD57⁺-клеток, другие авторы [3, 5, 10] обнаружили сниженное содержание CD16⁺-клеток. Нами [2] с помощью этого метода впервые установлено, что в крови первичных больных ИЗСД содержится также низкое количество CD56⁺-клеток. Вместе с тем появились данные [4, 9], свидетельствующие о том, что различные МАТ выявляют не совсем фенотипически идентичные субклассы ЕКК, которые обладают неодинаковой цитотоксичностью и, возможно, другими функциями.

Нами сделана попытка при помощи метода проточной цитометрии изучить ЕКК различного иммунологического фенотипа (CD16⁺, CD56⁺ и CD57⁺) у первичных больных ИЗСД. Исследована кровь 20 впервые выявленных больных ИЗСД, не получавших инсулина или каких-либо других сахароснижающих средств, в возрасте 14—36 лет, а также 24 первичных донора в возрасте 18—40 лет, составивших контрольную группу.

У всех обследованных на основании подсчета общего количества лейкоцитов и лейкоцитарной формулы определяли абсолютное содер-

жание лимфоцитов мононуклеары плотности фиксации), использованием эмбриона: 1) а Leu 7 к классов ЕКК выявляющих «Becton—Dickinson» к CD5 гранулоцитарного века с ЕКК а для визуализации против иммунотитицианатом. Использование ной обработки счет и анализ FACS тар (ф «Coulter», СИ субпопуляций ток и получа этих данных вычисляли ас пуляций.

Исследование CD16⁺, больных ИЗСД более значительное количество, не $\pm 0,020$ клеток $\cdot 10^9/\text{л}$ у доноров для всех больных держание СИ $\pm 0,038$ клеток здоровых, Р-наблюдалось CD56⁺- и СИ того параллельно любым двум

При анализе сравнении с нормальными лимфоцитами числа ярко с По имеющимся данным дают наиболее высокую активность

Полученные исследования больных ИЗСД нии статистических данных таких больных верхностным указывают на сирующие С ЕКК одной ледний мар более высокой литической применения ви CD56⁺-к.

AGNOSIS OF

disorders of the
peak proved to

severity of the
nciency.

Поступила 20.07.89

ХАПЛОВСКАЯ.

ИНОГО
и CD57+)
АХАРНЫМ

К. П. Зак)

[3, 5, 7] было
ым сахарным
истемы естест-
еделяет неспе-
первую линию
различных ин-
и иммунитета.
ении их цито-
ткам-мишеням
следующих об-
гва ЕКК явля-
ноклональных
CD16, CD56

яния неспеци-
почти не при-
ные работы, в
ых МАТ. Так,
со здоровыми
ние авторы [3,
гек. Нами [2]
ови первичных
CD56+-клеток-
щие о том, что
дентичные суб-
чностью и, воз-

ной цитометрии
(CD16+, CD56+
овь 20 впервые
или каких-либо
ет, а также 24
их контрольную

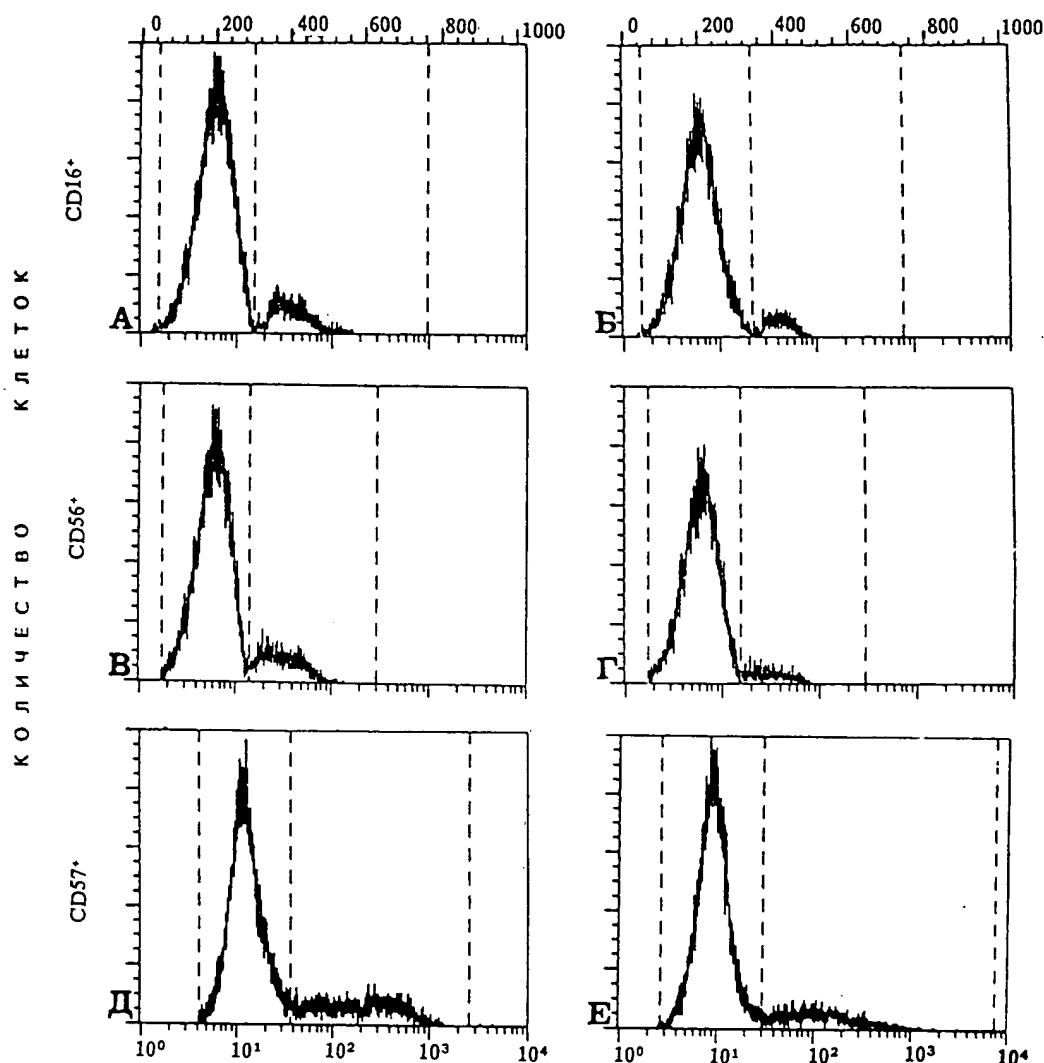
его количества
солютное содер-

жение лимфоцитов. Из венозной гепаринизированной крови выделяли мононуклеары дифференциальным центрифугированием в градиенте плотности фиколл-пака (разделяющая смесь фирмы «Pharmacia», Швеция), используя среду RPMI-1640 (фирма «Serpa», ФРГ), с добавлением эмбриональной телячьей сыворотки. В работе применяли МАТ: 1) а Leu 7 к CD57 антигену, являющемуся маркером одного из субклассов ЕКК и некоторой части Т-лимфоцитов; 2) а Leu 11 (CD16), выявляющих Fc рецептор для IgG, т. е. около 90% ЕКК (фирма «Becton—Dickinson»); 3) а NKH-1 (фирма «Coulter Immunology», США) к CD56 антигену, который экспрессирован на всех больших гранулодержащих лимфоцитах (БГЛ) периферической крови человека с ЕКК активностью [6]. В случае использования МАТ а NKH-1 для визуализации метки клетки обрабатывали козьими антителами против иммуноглобулинов мыши, конъюгированными с флюоресцеинизотиоцианатом — ФИТЦ (фирма «Coulter Immunology», США). Использование МАТ а Leu 7 и а Leu 11 не требует этой дополнительной обработки, так как они непосредственно связаны с ФИТЦ. Подсчет и анализ клеток проводили на проточных цитофлюориметрах FACS tar (фирма «Becton—Dickinson», США) и EPICS-C (фирма «Coulter», США). При определении содержания лимфоцитов различных субпопуляций в каждом образце анализировали по 10 000—25 000 клеток и получали соответствующие гистограммы (рис.). На основании этих данных и результатов подсчета количества лимфоцитов в мазках вычисляли абсолютное содержание в крови клеток каждой из субпопуляций.

Исследования показали, что абсолютное и относительное содержание CD16+, CD56+ и CD57+-клеток в крови первичных нелеченных больных ИЗСД статистически достоверно ниже, чем у здоровых. Наиболее значительное снижение отмечено при анализе содержания лимфоцитов, несущих CD16 и CD56 антигены ($0,057 \pm 0,018$ и $0,084 \pm 0,020$ клеток $\cdot 10^9/\text{л}$ у больных; $0,220 \pm 0,054$ и $0,259 \pm 0,029$ клеток $\cdot 10^9/\text{л}$ у доноров; $P < 0,05$ и $P < 0,001$ соответственно). Практически для всех больных характерен низкий уровень в крови этих клеток. Содержание CD57+-лимфоцитов изменялось в меньшей степени ($0,199 \pm 0,038$ клеток $\cdot 10^9/\text{л}$ у больных против $0,374 \pm 0,057$ клеток $\cdot 10^9/\text{л}$ у здоровых, $P < 0,02$). Следует отметить, что лишь у некоторых больных наблюдалось одновременное уменьшение в крови количества CD16+, CD56+ и CD57+-клеток. В большинстве случаев не установлено строгого параллелизма при любом варианте сравнения по всем трем или по любым двум показателям.

При анализе гистограмм видно, что у больных ИЗСД (рис.) по сравнению со здоровыми наблюдалось не только уменьшение количества лимфоцитов изучаемых субпопуляций, но и снижение среди них числа ярко светящихся клеток, расположенных вправо от осевой линии. По имеющимся данным [4], эти ярко флюоресцирующие клетки обладают наибольшей плотностью антигена и выраженной цитолитической активностью.

Полученные данные подтверждают результаты наших предыдущих исследований [1, 2], согласно которым у нелеченных первичных больных ИЗСД выявлено ослабление системы ЕКК. В настоящем сообщении статистически достоверное уменьшение количества ЕКК в крови таких больных обнаружено при использовании МАТ ко всем трем поверхностным антигенам ЕКК. Вместе с тем полученные результаты указывают на то, что наиболее значительно изменяются ЕКК, экспрессирующие CD56 антиген. Согласно последним данным [9], более 90% ЕКК одновременно коэкспрессируют CD16 и CD56 антигены, но последний маркер характерен для субпопуляции БГЛ, обладающей наиболее высокой активностью ЕКК. Показано, что очень высокая цитолитическая активность ЕКК к клеткам-мишеням, возникающая после применения интерлейкина-2, в основном обусловлена появлением в крови CD56+-клеток. При длительном воздействии интерлейкина-2 на ЕКК



И Н Т Е Н С И В Н О С Т Ь Ф Л Ю О Р Е С Ц Е Н Ц И И
Гистограммы распределения CD16⁺-(А, Б), CD56⁺-(В, Г) и CD57⁺-клеток (Д, Е) у донора и больного.

in vitro и in vivo одновременно со значительным увеличением активности ЕКК количество CD16⁺-клеток существенно не изменяется или даже снижается. Количество клеток с высокой плотностью CD56 антигена при этом резко увеличивается.

Отсутствие строгого параллелизма в изменениях количества различных субпопуляций ЕКК объясняется, вероятнее всего, тем, что у больных нарушения созревания и дифференцировки ЕКК могут быть неодинаковыми вследствие разных причин развития сахарного диабета (генетический дефект, аутоиммунный процесс, предшествующие вирусные заболевания и др.). В то же время показано [6], что в процессе созревания ЕКК исследуемые поверхностные антигены могут изменяться.

Таким образом, для первичных нелеченных больных ИЗСД характерно низкое содержание в крови ЕКК, экспрессирующих CD16, CD57 и особенно CD56 антигены. Степень уменьшения количества клеток исследуемых субпопуляций ЕКК в крови больных неодинакова. Это, по-видимому, опосредовано различиями в процессах созревания, дифференцировки данных клеток и поступления их в циркуляцию, что в свою очередь, возможно, отражает многообразие причин, приведших к развитию болезни.

1. Содержание и собственных клеток. К. П. Зак, Б. П. 1987.— Т. 33, №
2. Цитофлуориметрическим методом с использованием моноклональных антител. В. С. Шляхтер, С. 36—38.
3. Bizzarro A., Di Mellito insulino
4. Ellis T. M., Pyridoxal human Lymphocyte cytotoxicity assay. Orlean.— 1988.—
5. Hussain M. J., of natural killer cells determined. // J
6. Merle-Bezel H., large granular lymphocyte in vitro treatment. P. 1296—1303.
7. Negishi K., W cell activities in human. N. 3.— P. 345—
8. Rumpold H., S antibodies against Leukocyte Typing
9. Well-Hillman C., induced by increased expression of antigen. // Can
10. Wilson R. G., dependent diabetes

NATURAL KILLER CELLS (CD16⁺, CD56⁺)

V. S. Shlia

The method of isolation of Leu 11 (CD16) positive populations of natural killer cells from patients with diabetes mellitus. Patients with diabetes mellitus have a lower number of natural killer cells, in particular, CD56.

The degree of impairment of natural killer cell populations is indicative of the degree of diabetes leading to development of complications.

УДК 612.017:616.155.2

СОСТОЯНИЕ ИММУНИТЕТА

Лаборатория цитологии

Для оценки состояния иммунитета широко применяются методы исследования Т-лимфоцитов, позволяющие выявлять нарушения функции этих клеток, приводящие к развитию заболеваний.

1. Содержание и ультраструктура больших гранулосодержащих лимфоцитов (естественных клеток-киллеров) в крови больных сахарным диабетом I типа / К. П. Зак, Б. М. Хоменко, В. В. Афанасьева и др. // Пробл. эндокринологии.— 1987.— Т. 33, № 4.— С. 3—5.
2. Цитофлуориметрический анализ субпопуляций лимфоцитов крови, выявляемых моноклональными антителами, у больных сахарным диабетом I типа / М. А. Грузов, В. С. Шляховенко, Е. А. Сакало и др. // Там же.— 1989.— Т. 35, № 3.— С. 36—38.
3. Bizzarro A., Di Maetiro G., De Bellis A. et al. Cellule natural killer nel diabete mellito insulino dipendente // Med. Oggi.— 1987.— Vo. 7, N 3.— P. 247—252.
4. Ellis T. M., Pybicki M. K., Fischer R. G. Functional heterogeneity of in vivo generated human Lymphokine-Activated Killer (LAK) cells assessed using single cell cytotoxicity assays. // 79th ann. meet. Amer. ass. cancer res. Proceedings. New Orleans.— 1988.— Vol. 29.— P. 397.
5. Hussain M. J., Alving L., Millward B. A. et al. Evidence that the reduced number of natural killer cells in Type I (insulin-dependent) diabetes may be genetically determined. // Diabetologia.— 1987.— Vol. 30, N 12.— P. 907—911.
6. Merle-Bezal H., Boucheix C., Karray S. et al. A chronic lymphocyte leukemia with large granular lymphocytes. Phenotype and functions of leukemia cells under in vitro treatment by differentiations inducers // Cancer.— 1987.— Vol. 59, N 7.— P. 1296—1303.
7. Negishi K., Waldeck N., Chandy G. et al. Natural killer cell and islet killer cell activities in human Type I diabetes // Exp. clin. Endocrinol.— 1987.— Vol. 89.— N 3.— P. 345—353.
8. Rumpold H., Stückler G., Fellinger A. et al. Reactivity patterns of monoclonal antibodies against myeloid-associated antigens with human natural killer cells. // Leukocyte Typing II.— 1986.— Vol. 3.— P. 145—156.
9. Well-Hillman G., Fisch P., Prieve A. F. et al. Lymphokine-activated killer activity induced by in vivo Interleukin 2 therapy: predominant role for lymphocytes with increased expression of CD2 and Leu 19 antigens but negative expression of CD16 antigen. // Cancer. Res.— 1989.— Vol. 49.— P. 3680—3688.
10. Wilson R. G., Anderson J., Stenton B. K. et al. Natural killer cells in insulin dependent diabetes mellitus. // Brit. Med. J.— 1986.— Vol. 293, N 6541.— P. 244—249.

NATURAL KILLER-CELLS OF DIFFERENT IMMUNOLOGICAL PHENOTYPE (CD16⁺, CD56⁺ AND CD57⁺) IN THE BLOOD OF PATIENTS WITH INSULIN-DEPENDENT DIABETES MELLITUS

V. S. Shliakhovenko, M. A. Gruzov, S. E. Milenko, E. V. Mikhailovskaya, A. K. Kalinovsky, A. A. Khodak, K. P. Zak (Kiev)

SUMMARY

The method of flow cytometry employing monoclonal antibodies a Leu 7 (CD57), a Leu 11 (CD16) and a NKH-1 (CD56) was used to examine the content of different subpopulations of natural killer-cells in the blood of primary patients with insulin-dependent diabetes mellitus and in healthy subjects.

Patients with insulin-dependent diabetes mellitus showed as compared with healthy persons a lower content of natural killer-cells carrying all the examined markers, in particular, CD56.

The degree of reduction of the number of natural killer-cells of different subpopulations is individual for each patient that, possibly, reflects the diversity of causes leading to development of the disease.

Поступила 02.07.90

УДК 612.017:616.155.372-006.446-085.28

А. С. ЗВЕРКОВА, Г. Г. БРАТУСЬ

СОСТОЯНИЕ Т-СИСТЕМЫ ИММУНИТЕТА У БОЛЬНЫХ ГЕМОБЛАСТОЗАМИ ПРИ ПОЛИХИМИОТЕРАПИИ

Лаборатория цитоэнзимодиагностики (руководитель — д-р мед. наук А. С. Зверкова)
Киевского НИИ гематологии и переливания крови

Для оценки Т-системы иммунитета в норме и при патологии широко применяется теофиллиновый метод определения субпопуляций Т-лимфоцитов [8]. В основе его лежит способность теофиллина (ТФ) повышать внутриклеточный уровень цАМФ [7], что вызывает ослабление экспрессии Е-рецепторов на поверхности Т_H-клеток (супрессоров/киллеров) и не отражается на Е-рецепторном представительстве